

Das Wachstum von *Arabidopsis*

Leuchtstoffröhren oder LED-Belichtung, eine vergleichende Analyse

Jürgen Soll¹ und Bettina Bölter¹

Die vergleichende Analyse phänotypischer und molekularer Eigenschaften von *Arabidopsis thaliana* unter standardisierten Anzuchtbedingungen ist in Klimakammern mit herkömmlicher Beleuchtung schwierig. Häufig werden Leuchtstoffröhren verwendet, die verschiedene Nachteile haben wie eine hohe Wärmeabgabe bei höheren Lichtintensitäten, unveränderbare Spektren und relativ schnelle Alterung.

Auch sind die Spektren im Vergleich der Leuchtmittel-Hersteller leicht verschieden oder verschieben bei Verringerung der Lichtintensitäten am Leuchtmittel das Spektrum. Dies führt zu nicht gewünschten Änderungen in den Anzuchtbedingungen und vermindert die Vergleichbarkeit von Versuchsergebnissen über längere Zeiträume.

Die vorliegende Studie wurde mit LED-Lichtsystemen (RHENAC GreenTec AG) durchgeführt. Dabei wurde das Wachstumsverhalten von *Arabidopsis Col-0* unter verschiedenen Belichtungsbedingungen mit Leuchtstoffröhren und LED-Lampen mittels physiologischer und Genexpressionsanalyse untersucht. Das Wachstumsverhalten von *Arabidopsis* kann durch Änderung der spektralen Zusammensetzung und/oder Änderung der Lichtintensität der LED-Belichtung klar gesteuert werden. Dies ermöglicht die Untersuchung phänotypischer Eigenschaften unter spezifischen, stabilen und reproduzierbaren Beleuchtungsbedingungen, die mit Leuchtstoffröhren nicht zu erreichen sind. Mit einer regelbaren LED-Belichtung kann auch annähernd das Spektrum des natürlichen Sonnenlichtes nachgebildet werden, so dass das Pflanzenwachstum unter nahezu natürlichen Bedingungen untersucht werden kann. Die Studie beschreibt unterschiedliches Wachstumsverhalten und physiologische Eigenschaften der Pflanzen unter verschiedenen Beleuchtungsbedingungen und zeigt, dass nur LED-Belichtung variable Strahlungsspektren zur Untersuchung von Pflanzenwachstum unter definierten und stabilen Lichtbedingungen liefert.



Licht

Licht ist der wichtigste Faktor für Entwicklung und Wachstum der Pflanzen. Nicht nur die Intensität des Lichts, sondern auch die spektrale Zusammensetzung haben große Wirkung für viele Aspekte des Pflanzenlebens, wie zum Beispiel Photosynthese, Differenzierung und Blütenbildung. Pflanzen besitzen verschiedene Sensoren für Lichtmenge, farbliche Licht-Zusammensetzung und circadianem Tagesrhythmus. Diese Fotorezeptoren stehen am Beginn komplexer Signalübertragungsnetzwerke, die die Entwicklung, Physiologie und Form kontrollieren. Pflanzen nutzen Licht mit Wellenlängen von etwa 280 bis 750 nm zu unterschiedlichen Zwecken. Im Bereich des sichtbaren Lichts zwischen 380 und 730 nm absorbieren sie im wesentlichen Chlorophyll a und b sowie Carotinoide. Blaues und rotes Licht spielen die Hauptrolle in der Photosynthese, während rotes (660 nm) und dunkelrotes Licht (730 nm) die Keimung, das vegetative Wachstum sowie Knospen- und Blütenbildung beeinflussen. Es gibt verschiedene Klassen von Fotorezeptoren: Phytochrome

(in *Arabidopsis* gibt es die fünf Typen phyA bis phyE) absorbieren rotes und dunkelrotes Licht, während blaues Licht von Cryptochromen (cry.1 und cry.2), Phototropinen (phot.1 und phot.2) und Zeitlupe Proteinen (ZKL, FkF1 und LKP2) aufgenommen wird. UV-B Strahlung wird über spezifische Rezeptoren (UVR8) detektiert und führt zunächst zu stressbezogenen Anpassungen, die in Schutzmaßnahmen gegen die schädliche UV-Strahlung übergehen. Nahezu alle Prozesse im Lebenszyklus einer Pflanze sind durch Licht über diese Fotorezeptoren und die nachgeordneten Signalketten reguliert. Diese beinhalten oft auch die Aktivierung und Deaktivierung von Transkriptionsfaktoren, die die Expression von Genen z.B. für die Synthese und den Transport von Hormonen kontrollieren.

Beleuchtung

Das natürliche Sonnenlicht enthält die komplette Bandbreite nutzbarer Wellenlängen und ist damit eine ideale Lichtquelle für Pflanzen. Allerdings ist dieses Licht auf-

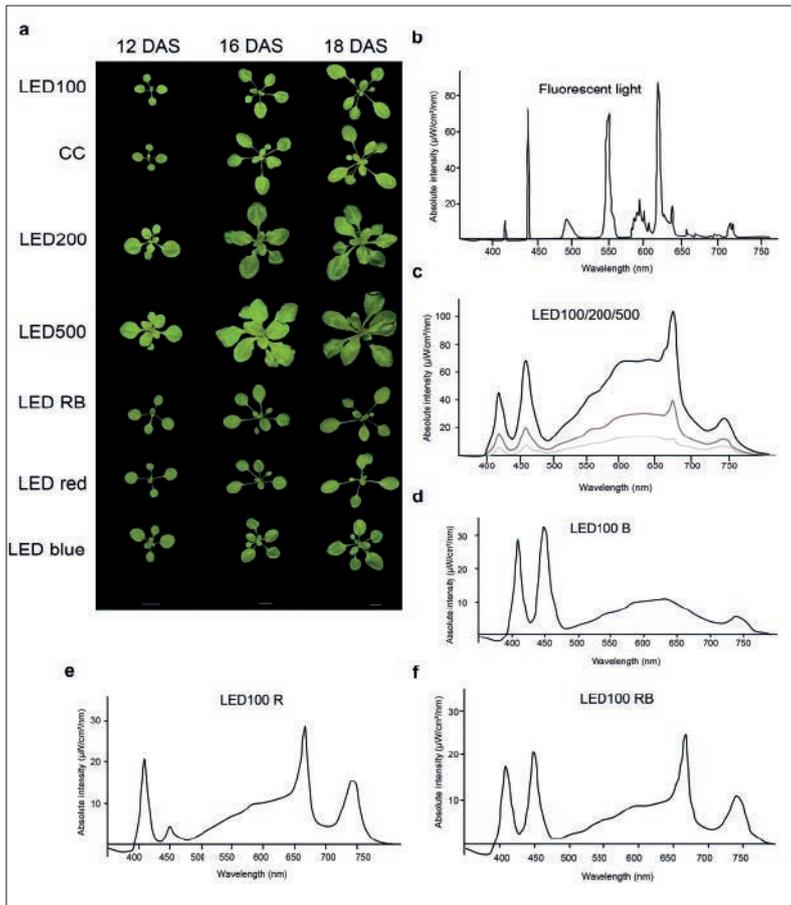


Abb. 1: *Arabidopsis thaliana* zeigt unterschiedliches Wachstum unter verschiedenen Beleuchtungsbedingungen. (a) Pflanzen gewachsen unter $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ LED (LED100) oder Leuchtstoffröhren (CC) in einer Klimakammer, unter LED Licht mit $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (LED200) und $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (LED500), und jeweils $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ LED red, LED blue und LED red/blue. Anzucht in Erde, Fotos am 12., 16. und 18. Tag nach Aussaat; (b-f) Spektren der verschiedenen Lichtszenarien. Die Gesamtlichtintensität entspricht der Fläche unter den Kurven. (b) Spektrum der Leuchtstoffröhren in der Klimakammer; (c) LED Spektren bei $100, 200$ und $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; (d) LED Spektrum für LED100 mit erhöhten Anteilen an blauem Licht; (e) LED Spektrum für LED100 mit erhöhten Anteilen an rotem Licht; (f) LED Spektrum für LED100 mit erhöhten Anteilen an rotem blauem Licht.

grund wetterbedingter Schwankungen nicht in konstanter Intensität und Qualität standortunabhängig verfügbar. In der Pflanzenzucht und zur Forschung werden daher Leuchtstoffröhren, Halogen-, Hochdruck-Natrium- und Glühlampen in Anzucht-kammern und Gewächshäusern eingesetzt. Diese Leuchtmittel haben einen hohen Energieverbrauch und produzieren sehr viel Wärmestrahlung. Zudem verändert sich alterungsbedingt mit fortschreitender Betriebsdauer die spektrale Zusammensetzung des abgestrahlten Lichts. Im Vergleich dazu kann mit LED-Technik die spektrale Zusammensetzung des Lichts individuell gewählt werden und nahezu Tageslicht nachgebildet werden. Zudem kann mit LED-Technik ein fluktuierendes Tageslicht erzeugt werden, das die Veränderungen des Lichts im Tagesverlauf nachbilden kann. Energieeffizienz, geringe Wärmeabgabe sowie eine lange Lebensdauer ohne Alterungseffekte sind weitere Vorteile dieser Technologie. Die vorliegende Studie vergleicht die morphologischen und physiologischen Eigenschaften von *Arabidopsis thaliana* Columbia-0, die unter LED-Licht verschiedener Intensität und spektraler Zusammensetzung sowie unter Leuchtstoffröhren für 18 Tage unter sonst gleichen Bedingungen angezogen wurden. Darüber hinaus wurden Genexpressionsprofile der verschiedenen Versuchsgruppen aufgenommen.

Wachstum

Das Wachstumsverhalten von *Arabidopsis thaliana* Col 0 wurde unter LED und Fluoreszenzlicht verschiedener Intensität sowie unter LED Licht mit verschiedenen spektralen Zusammensetzungen verglichen (Abb. 1). Der Phänotyp der Pflanzen wurde 12, 16 und 18 Tage nach Aussaat dokumentiert. Referenzpunkt für alle Experimente war die Belichtungsvariante LED100 mit einer Lichtintensität von $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und einer spektralen Zusammensetzung ähnlich der des Tageslichts. Bei gleicher Lichtintensität zeigten Pflanzen unter Leuchtstoffröh-

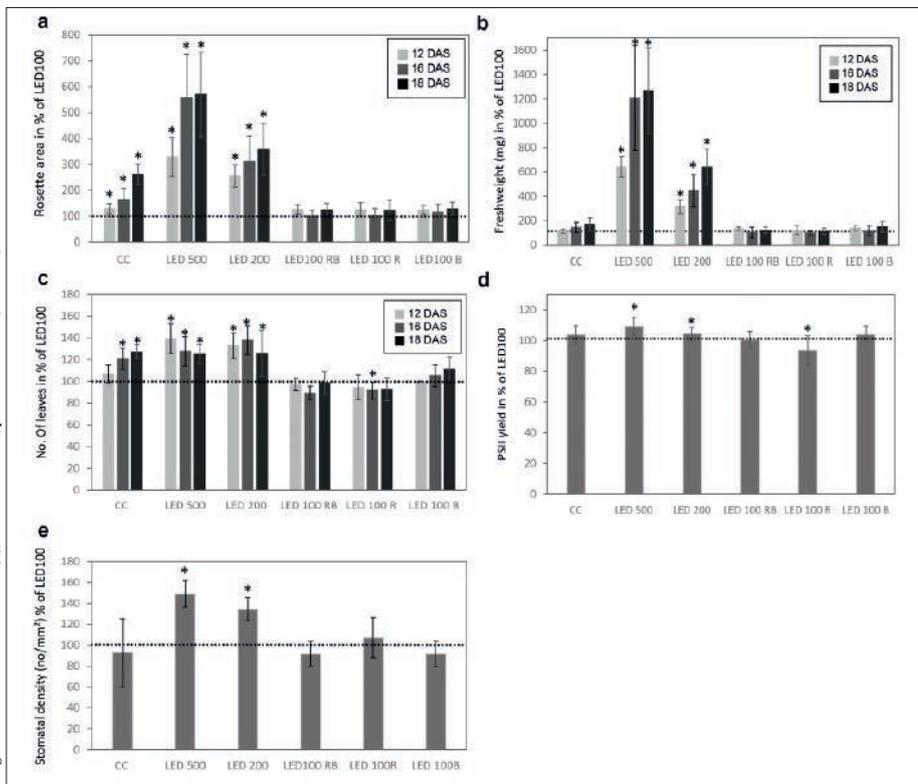


Abb. 2: Physiologische Parameter von Pflanzen, die unter verschiedenen Lichtbedingungen gewachsen sind. (a) Mittlere Rosetten-Fläche in % im Vergleich zu LED100 aus $n = 6$ Pflanzen gemessen bei 12, 16 und 18 DAS. Die gepunktete Linie stellt den Wert von Pflanzen dar, die bei LED100 in allen Graphen gewachsen sind; (b) Mittleres Frischgewicht (mg) von $n = 6$ Pflanzen bei 12, 16 und 18 DAS; (c) Anzahl der Blätter in % im Vergleich zu LED100 aus $n = 6$ Pflanzen gemessen bei 12, 16 und 18 DAS; (d) PSII-Ausbeute aus Pflanzen bei 18 DAS in % im Vergleich zu LED100; (e) Stomatale Dichte angegeben als Zahl/mm² von Pflanzen bei 18 DAS. Wesentliche Änderungen gegenüber LED100 nach dem T-Test werden mit einem Stern (*) angezeigt.

Abb. 3: Vergleichende Genexpressionsanalyse von RNA, die aus Pflanzen isoliert wurde, die unter LED100 in der Klimakammer gewachsen sind. Balkendiagramm von hochregulierten (schwarze Balken) und herunterregulierten (graue Balken) Genen von Pflanzen, die in der Klimakammer gewachsen sind.

ren und LED kaum unterschiedliche Phänotypen. Die Erhöhung der LED Lichtintensität führte zu schnellerer Entwicklung und Wachstum mit einer Erhöhung der Anzahl an Blättern und Blattflächen und daraus resultierend einem höheren Frischgewicht.

Auch die Belichtung mit rotem und mit einer Kombination aus rotem und blauem LED-Licht führte in beiden Fällen zu einer ähnlichen Ausprägung der Pflanzen wie bei der Referenzbeleuchtung. Bei dem Einsatz von blauem Licht zeigten die Pflanzen ein gestauchtes Wachstum mit kürzeren Blattstielen. Auch im Bereich der photosynthetischen Leistungsfähigkeit (gemessen über die Chlorophyll a Fluoreszenz), konnte in den Ansätzen unter hohen Lichtintensitäten eine höhere Ausbeute an Photosystem II Komplexen festgestellt werden. Da beschrieben ist, dass die Entwicklung der Spaltöffnungen auch lichtabhängig ist, wurde die Spaltöffnungsichte in den Ansätzen nach 18 Tagen bestimmt. Bei den Pflanzen, die unter hohen Lichtintensitäten angezogen wurden, war die Spaltöffnungsichte um bis zu 40% erhöht. Im direkten Vergleich der Ansätze unter LED100 und Leuchtstoffröhren konnten in der Genexpressionsanalyse etwa 200 differenziell regulierte Gene nachgewiesen werden. Die meisten dieser Gene stammen aus der Gruppe RNA Regulation und Transkription. Dies deutet auf einen klaren Einfluss der Lichtqualität auf die Genexpression hin. Daneben sind viele Gene aus den Bereichen Transport, Protein Homöostase und Enzyme differenziell exprimiert. Da der Phänotyp der Pflanzen in den Ansätzen recht ähnlich war, ist eindeutig, dass die differentielle Genexpression nicht notwendigerweise auch in einer phänotypischen Ausprägung sichtbar wird. Dennoch ist festzuhalten, dass eine Veränderung der Lichtqualität zu fundamentalen Änderungen im Transkriptom führen.

Lichtqualität

Das Wachstum von *Arabidopsis thaliana* Col 0 ist eindeutig von der Lichtquantität und -qualität abhängig. In dieser Untersuchung wurden die Pflanzen nicht nur kurzzeitig verschiedenen Lichtqualitäten ausgesetzt, sondern die gesamte Anzucht erfolgte unter den beschriebenen Belichtungsbedingungen.

Bei ausreichender Versorgung mit Nährstoffen führten hohe Lichtintensitäten zu einem etwa 10-fach schnelleren Wachstum. Trotz der hohen Lichtintensität machten die Pflanzen einen gesunden Eindruck und waren

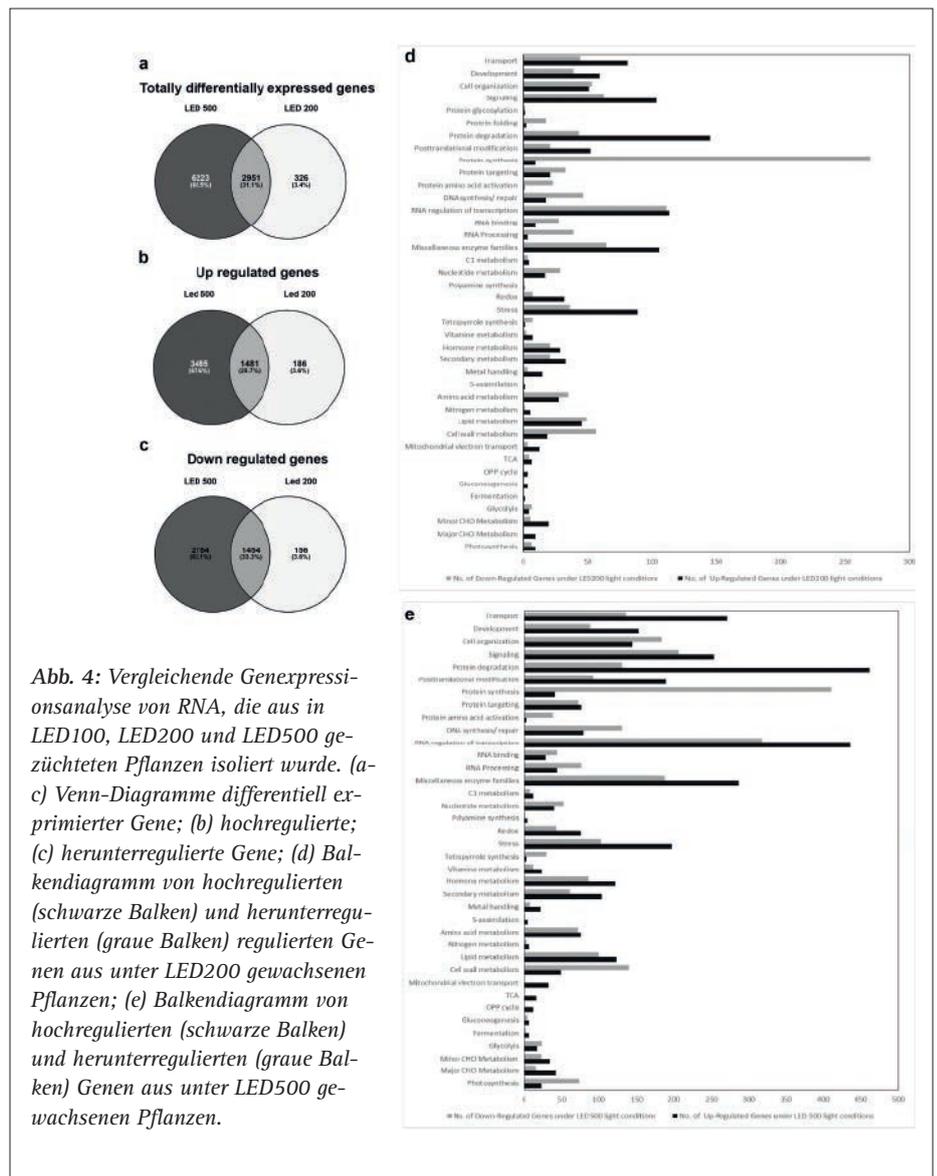
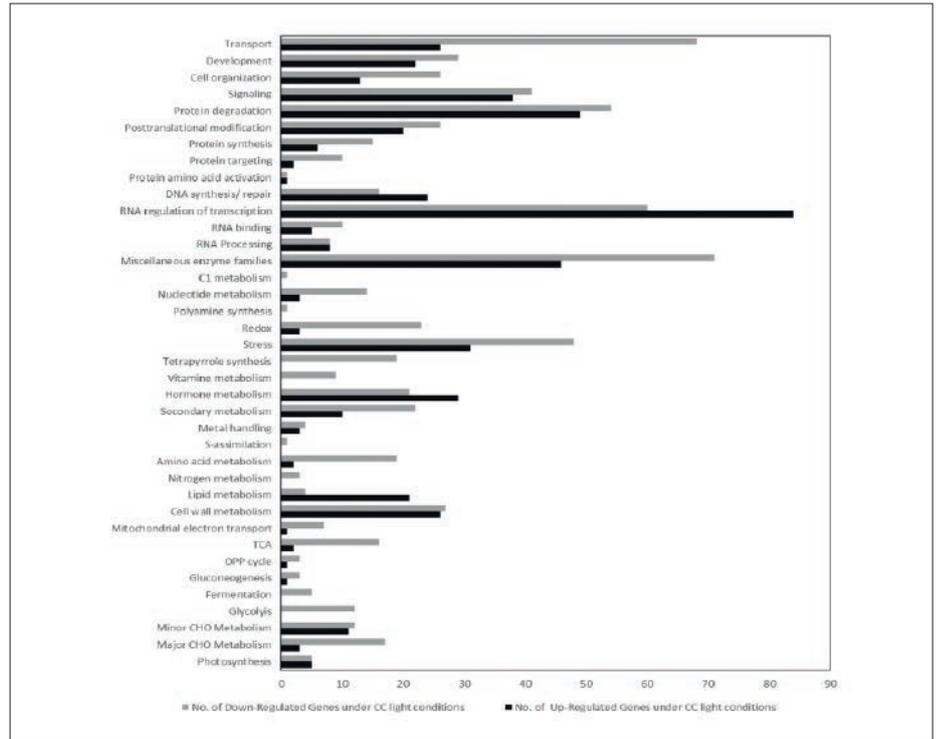


Abb. 4: Vergleichende Genexpressionsanalyse von RNA, die aus in LED100, LED200 und LED500 gezüchteten Pflanzen isoliert wurde. (a-c) Venn-Diagramme differenziell exprimierter Gene; (b) hochregulierte; (c) herunterregulierte Gene; (d) Balkendiagramm von hochregulierten (schwarze Balken) und herunterregulierten (graue Balken) regulierten Genen aus unter LED200 gewachsenen Pflanzen; (e) Balkendiagramm von hochregulierten (schwarze Balken) und herunterregulierten (graue Balken) Genen aus unter LED500 gewachsenen Pflanzen.

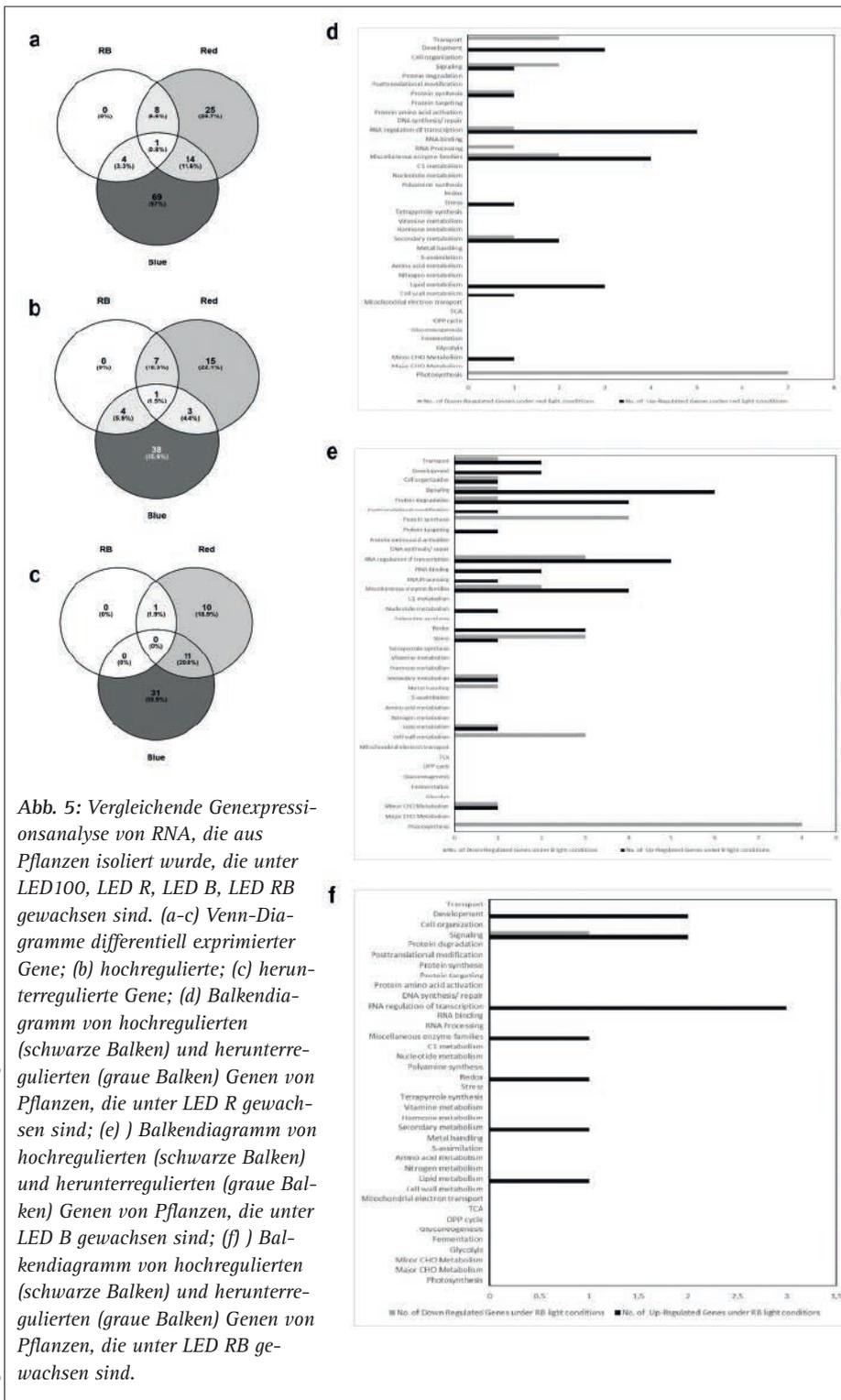


Abb. 5: Vergleichende Genexpressionsanalyse von RNA, die aus Pflanzen isoliert wurde, die unter LED100, LED R, LED B, LED RB gewachsen sind. (a-c) Venn-Diagramme differenziell exprimierter Gene; (b) hochregulierte; (c) herunterregulierte Gene; (d) Balkendiagramm von hochregulierten (schwarze Balken) und herunterregulierten (graue Balken) Genen von Pflanzen, die unter LED R gewachsen sind; (e) Balkendiagramm von hochregulierten (schwarze Balken) und herunterregulierten (graue Balken) Genen von Pflanzen, die unter LED B gewachsen sind; (f) Balkendiagramm von hochregulierten (schwarze Balken) und herunterregulierten (graue Balken) Genen von Pflanzen, die unter LED RB gewachsen sind.

frei von Stresssymptomen, wie zum Beispiel einer erhöhten Anthocyanin-Akkumulation und einer damit verbundenen rötlichen Färbung. Solche allgemeinen Stressreaktionen auf hohe Lichtintensitäten müssen von spezifischen Anpassungsreaktionen unterschieden werden. Ein erhöhter Anteil von blauem Licht hatte ebenfalls sichtbare Effekte auf den Phänotyp der Pflanzen und führte zu einem gestauchten Wachstum und einer höheren Anzahl von Blättern mit kürzeren Blattstielen. In der Kombination von rotem und

blauem Licht überwog der Effekt des roten Lichts und die Pflanzen glichen denen, die nur unter rotem Licht kultiviert wurden. In verschiedenen anderen Studien konnte gezeigt werden, dass die Fotorezeptoren für blaues und rotes Licht synergistisch arbeiten. In dieser Studie scheinen die Rotlichtrezeptoren in ihrer Wirkung zu dominieren.

Obwohl LED Licht eine tiefgreifende Wirkung auf die Genexpression hat, waren die Pflanzen aus den entsprechenden Versuchsreihen phänotypisch kaum verschieden. Dies

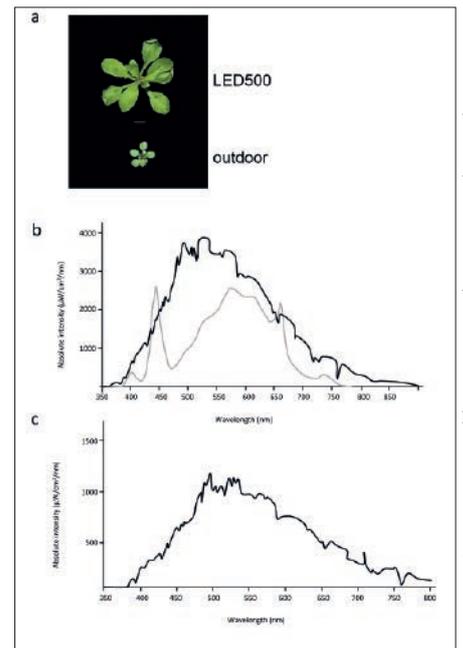


Abb. 6: Arabidopsis wächst unter vollständig kontrollierten Umweltbedingungen besser. (a) Phänotypen von Pflanzen, die unter LED500 oder im Freien gewachsen sind. Pflanzen wurden auf dem Boden angebaut und fotografiert bei 18 DAS, bzw. bei der im Freiland gezüchteten Anlage bei 38 DAS. Die Maßstabsleiste repräsentiert 1 cm. Bitte beachten Sie, dass das Bild von LED500 identisch mit Abbildung 1 ist; (b) Emissionsspektren von LED500 (untere graue Linie) und natürliches Licht bei sonnigen Bedingungen (obere schwarze Linie); (c) Emissionsspektrum von natürlichem Licht bei bewölktem Wetter.

deckt sich mit Beobachtungen aus früheren Arbeiten, in denen verschiedene Untersuchungen zur Vergleichbarkeit von Anzuchtbedingungen speziell im Bereich der Genexpressionsmuster eine hohe Variabilität nachwiesen. In der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass moderne LED-Technologie geeignet ist, die etablierten Belichtungssysteme nicht nur zu ersetzen, sondern die Qualität der Beleuchtung zu verbessern, da die LED-Technik individuelle Kompositionen verschiedener Lichtspektren ermöglicht. Zudem lässt sich der Energieeinsatz deutlich reduzieren.

Zugehörigkeiten

¹Biozentrum der Ludwig Maximilians Universität, Institut für Botanik, Planegg-Martinsried, Deutschland

KONTAKT |

Kontakt
Dagmar Ziegner
 RHENAC GreenTec AG
 Hennen, Deutschland
 d.ziegner@rhenac-systems.de.de
 www.rhenac-greentec.de